



Запорізький державний медичний університет
Кафедра клінічної лабораторної діагностики

Клініко-діагностичні маркери патології серцево-судинної системи



Актуальність

За останні 15 років смертність від ССЗ в Україні зросла в півтора рази. На сьогодні кожен десятий житель України у віці від 35 до 50 років має кардіопатологією, а в цілому ССЗ відзначені майже у 60% росіян. Чоловіки в Україні помирають в 7 разів частіше, ніж в Англії, і в 8 разів частіше, ніж в США. Хвороби системи кровообігу є сьогодні головною причиною смертності в Україні, частка смертності від ССЗ досягає 56% (!).

Натрійуретичні пептиди

Передсердний (ANP), мозковий (BNP) та С-натрійуретичний (CNP) пептиди - члени сімейства гормонів, секретуючих передсердям, шлуночком та ендотеліальними клітинами (ЕК) судин, відповідно. У мозку, судинах, нирках, надниркових залозах та легенях ідентифіковані рецептори для NP - A, B і C. Деградація NP здійснюється ферментом нейтральної ендопептидазою, найбільшу кількість якої визначається в епітеліальних клітинах проксимального каналця нефрона. Основним стимулом секреції NP є підвищення напруги міокарда при збільшенні тиску в лівому шлуночку серця.

При ССЗ NP відображають скоротливу функцію серця, тому можуть бути використані для діагностики серцевої недостатності до проведення інструментального обстеження.

Передсердних натрійуретичний пептид (ПНП, передсердний натрійуретичний фактор, передсердний натрійуретичний гормон, атріопептин) — пептидний гормон, що секретується кардіомиоцитами і є потужним вазоділятором. Передсердних натрійуретичний пептид бере участь в регуляції водно-електролітного обміну та метаболізму жирової тканини, синтезується в м'язових клітинах передсердь у відповідь на підвищення кров'яного тиску. Передсердних натрійуретичний пептид знижує обсяг води та концентрацію натрію в судинному руслі.

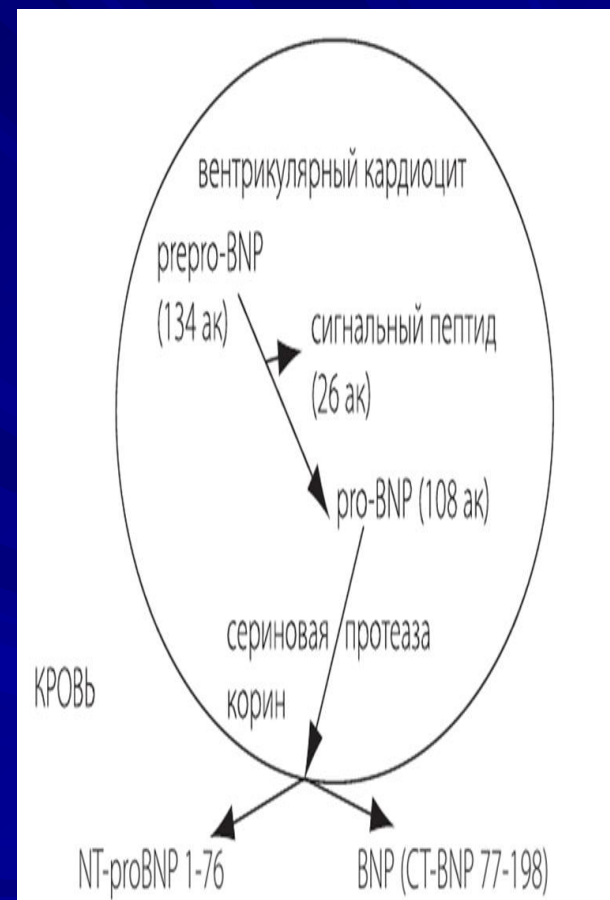
Передсердних натрійуретичний пептид секретується у відповідь на:

- растягування передсердь;**
- стимуляцію β -адреноблокаторів;**
- гіпернатріємію, хоча підвищення натрію в крові не є прямим стимулом до вивільнення ПНП;**
- ангіотензин-II**
- ендотелін**

Передсердний натрійуретичний пептид зв'язується зі специфічним набором рецепторів (**рецептори ПНП**). Приєднання агоністу до даних рецепторів викликає зниження об'єму циркулюючої крові і системного артеріального тиску. При цьому спостерігається активація ліполізу і зниження реабсорбції натрію в ниркових каналцях. **Ефект передсердно натрійуретичного пептиду протилежний дії на організм ренін-ангіотензинової системи.**

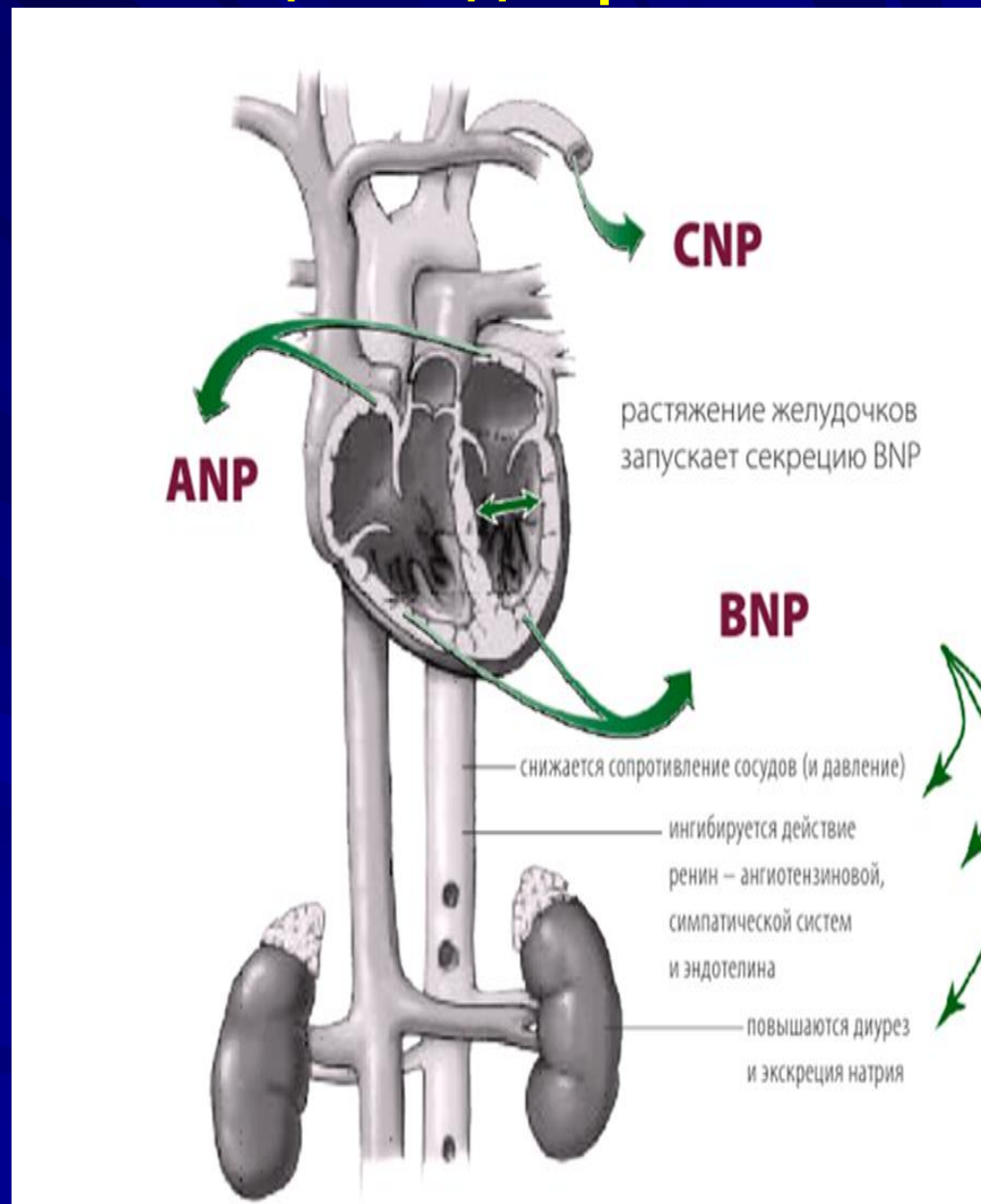
Мозковий натрійуретичний пептид (BNP)

BNP був спочатку ідентифікований в мозку свині і пізніше був виділений з серця тієї ж тварини. Зріла форма **BNP**, секретується переважно в шлуночках серця, поводить з високомолекулярного попередника **proBNP** (1-108) У плазмі циркулюють **BNP-32**, високомолекулярна форма **BNP** і N-термінальна частина **proBNP** (1-76), що розщеплюється згодом на **Nt-proBNP** (8 - 29) і **mid-proBNP** (32-57). Отримані дані свідчать, що концентрація **Nt-proBNP** в чотири рази вище концентрації **BNP-32** після ГІМ і хронічної серцевої недостатності, тобто це - найкращий маркер ранньої кардіальної дисфункції в порівнянні з **BNP-32**.

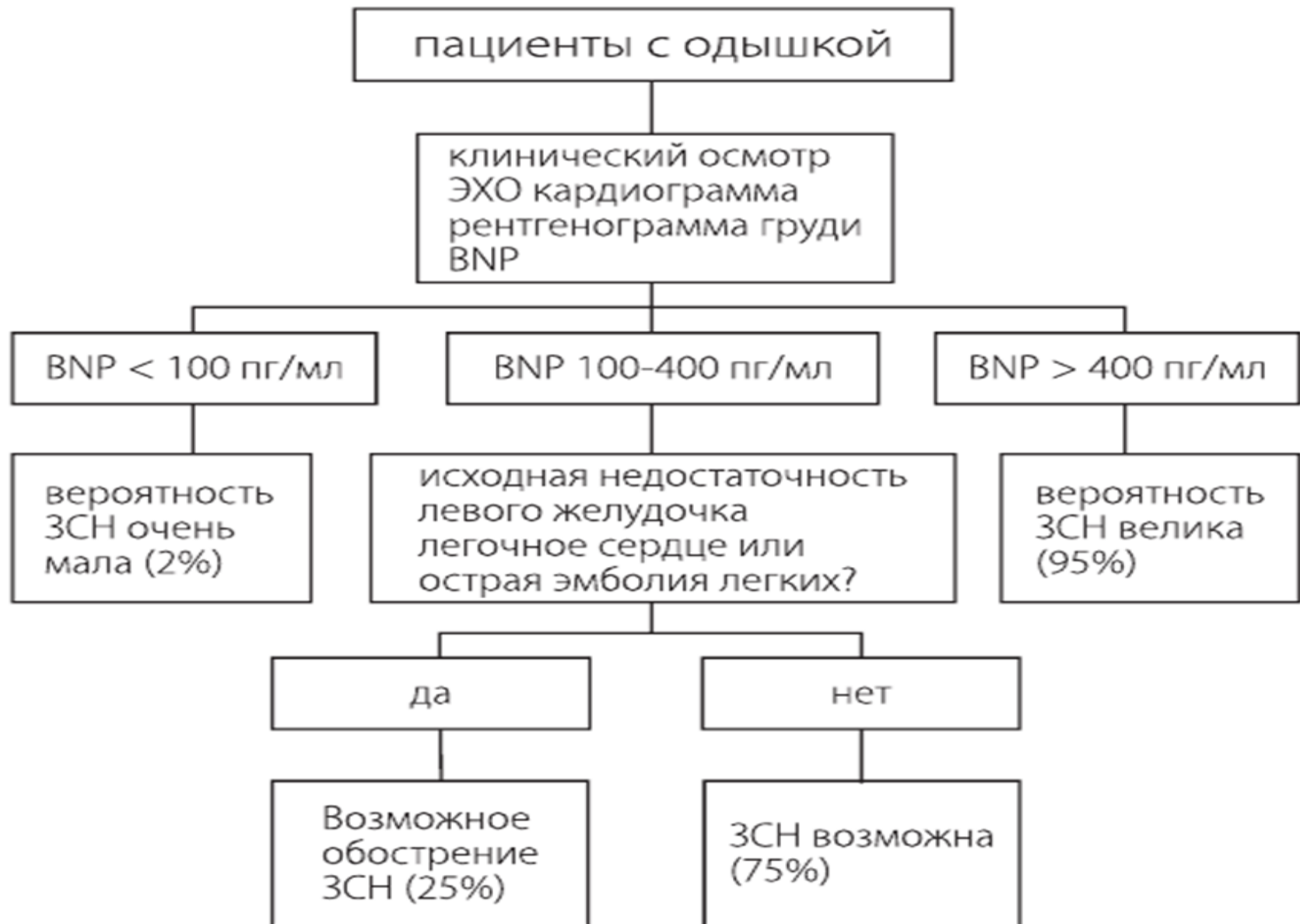


Реалізація NP дії при СН

Після гострого інфаркту міокарда (ГІМ) рівень NP швидко збільшується. Для діагностичних і прогностичних цілей, BNP є найбільш значущим. Це пов'язано з тим, що BNP секретується в шлуночках серця, безпосередньо відображаючи навантаження на міокард, зокрема, BNP більш точно відображає міокардіальну напругу в стінці лівого шлуночка. При миготливій аритмії вміст в плазмі ANP з часом знижується, що відображає зменшення секреторної активності передсердь.



Протокол дослідження



За рівнем **BNP** можна чітко визначити ступінь розвитку застійної серцевої недостатності за класифікацією NYHA (Нью-Йоркської кардіологічної асоціації). В цілому ряді робіт з дослідження BNP при серцевій недостатності пропонується використання цього маркеру в оцінці ефективності терапії серцевої недостатності.

Ендотелін (Е)

Ендотелін був вперше ідентифікований в 1988 р в культурі ЕК аорти свині. Він є головним вазоконстрикторним пептидом. вазоконстрикторний потенціал Е в 10 разів вище, ніж у ангіотензину II. В даний час виділені і очищені три ізоформи: Е-1, -2 і -3. Всі вони складаються з 21 АК залишку. Подібно до інших пептидних гормонів Е утворюються при протеолітичному розщепленні специфічного **препро-Е**. Цей поліпептид, відомий під назвою **Big-ендотелін** (Big-E), складається з 38 АК залишків. Процес перетворення Big-E в Е здійснюється під дією мембранозв'язаної металопротеїнази - **ендотелін-перетворюючого ферменту**. Фізіологічне значення розщеплення Big-E полягає в тому, що вазоконстрикторна активність Е в 140 разів вище в порівнянні з активністю Big-E.

Ендотелін (Е)

Основний механізм дії ендотеліну полягає у вивільненні кальцію, що викликає:

1. стимуляцію всіх фаз гемостазу, починаючи з агрегації тромбоцитів і закінчуючи утворенням червоного тромбу;
2. скорочення і зростання гладких м'язів судин, що призводять до потовщення стінки судин і зменшення їх діаметру - вазоконстрикції.

Синтез ендотеліну підсилюють **тромбін** (активізує ендотелінперетворюючий фермент) і **тромбоцити**. Ендотеліни, в свою чергу, викликають адгезію і агрегацію тромбоцитів.

E має дуже короткий період напіврозпаду (близько 40 сек.), В той час як період напіврозпаду Big-E набагато більший. Було показано, що E і Big-E мають прогностичне значення при порушенні серцевої діяльності, при ІМ. За рівнем Big-E можна робити довгостроковий прогноз виживання у пацієнтів із застійною серцевою недостатністю. Крім того, E є маркером ранньої реоклюзії коронарної ендотеліальної дисфункції, порушення функціонування печінки, зниження функції нирок. Високий рівень E в плазмі спостерігається при різних станах: ішемії, після гемодіалізі та есенціальній гіпертензії.

Патофізіологічні ефекти ендотеліну



Маркери пошкодження міокарду

Діагноз ГІМ, згідно з рекомендаціями ВООЗ, ґрунтується на трьох базисних постулатах:

- 1) клінічній картині,
- 2) даних ЕКГ-досліджень
- 3) виявленні гіперферментемії (підвищеної концентрації міокардіальних маркерів).

Діагноз ГІМ вважається достовірним у разі, якщо два з трьох названих діагностичних критеріїв є безперечними та однозначно трактовані.



МВ-фракція креатинкінази (КК-МВ)

КК-МВ Загальна КК в серцевому м'язі складається з двох ізоферментів: КК-ММ (близько 60% загальної активності) і КК-МВ (близько 40%), **КК-ВВ** відсутня.

КК-МВ - димер, що складається з двох субодиниць: М (м'язова) і В (мозкова). **вважається відносно кардіоспецифічними.** Підвищення активності КК-МВ найбільш специфічно для ІМ: збільшення спостерігається вже через 4-8 години після гострого нападу та досягає максимуму через 12-24 год, на третю добу активність ферменту повертається до нормальних значень (при неускладненому перебігу ІМ).

При розширенні зони ІМ активність КК-МВ підвищена довше, що дозволяє діагностувати ІМ пролонгованого і рецидивного перебігу.

Міоглобін

Міоглобін - гемвмісний хромопротеїд; являє собою легкий ланцюг міозину з м.м. 17,6 кДа. Є білком, що транспортує кисень в скелетних м'язах та міокарді. Міоглобін зв'язується з білками крові; при пошкодженні міокарду і скелетних м'язів легко і швидко потрапляє в кров і потім швидко видаляється нирками. Підвищення рівня білка в крові спостерігається вже через 2-3 години після появи болю при ІМ і зберігається 2-3 діб.

Тропонін

Комплекс **тропоніну** входить до складу скорочувальної системи м'язової клітини. Він утворений трьома білками: **тропоніном Т** (утворюючим зв'язкам з тропоміозином), **тропоніном І** (який може пригнічувати АТФ-азну активність) і **тропоніном С** (володіє значною спорідненістю до Ca^{2+}). Вміст тропоніну Т в міокардіоцитах приблизно в 2 рази перевищує рівень тропоніну І.



В кардіоміоцитах експресуються серцеві ізоформи лише тропоніна Т і тропонін І. Відповідно виявлення серцевого тропоніну Т і тропоніну І є високоспецифічним для пошкодження міокарду, що дозволило зробити ці маркери новим "золотим стандартом". В умовах хибнопозитивних підвищень рівня КФК-МВ (наприклад, при травмі скелетних м'язів) аналіз на тропонін виявиться здатним виявити будь-яке ураження міокарду.

NB!!! Тропонін Т - більш кардіоспецифічний проте:

1. після інфаркту інактивується швидше, ніж тропонін І;

2. набори для тропоніну Т - тільки у Roche-діагностик.

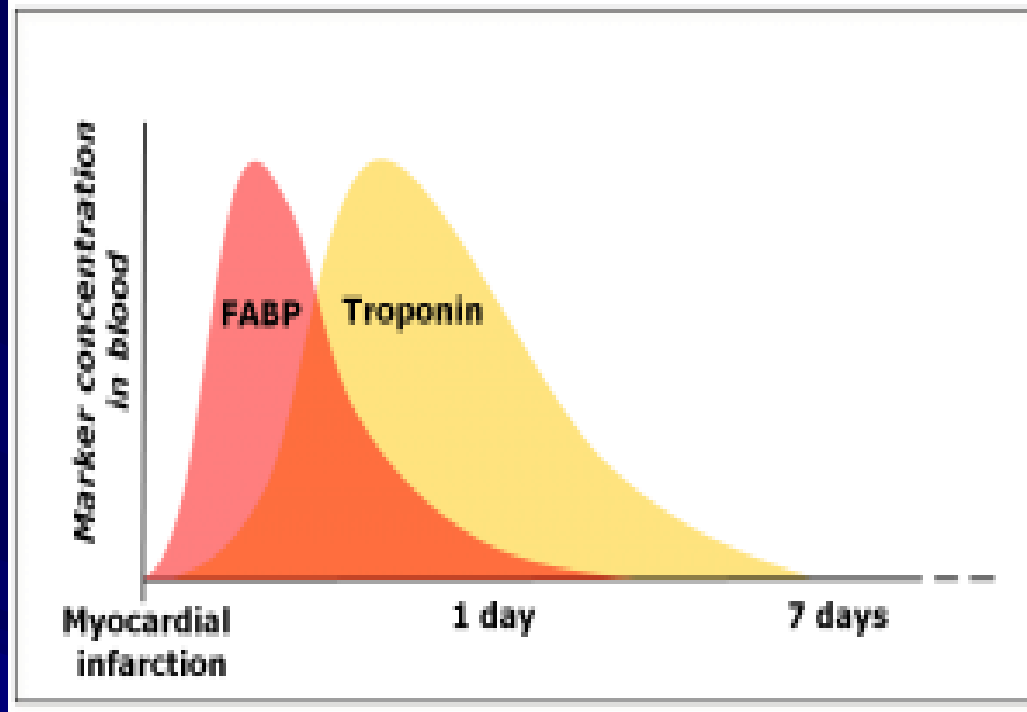
Чувствительность и специфичность маркеров ИМ

Маркер	Чувствительность			Специфичность
	3 ч	6ч	12ч	
Миоглобин	69 (48-86)	100 (87-100)	100 (87-100)	46 (33-60]
Тропонин I	54 (33-73)	81 (61-93)	100 (87-100)	90 (80-96]
Тропонин T	51 (26-70)	78 (58-89)	100 (82-96)	89 (78-95)
КК-МВ	46 (27-67)	88 (70-97)	100 (87-100)	78 (66-88)

Білок, що зв'язує жирні кислоти, серцева форма (H-FABP)

FABPs- клас цитоплазматичних протеїнів, що зв'язують довгі ланцюги жирних кислот. Широко представлені в різних типах клітин і відіграють важливу роль у внутрішньоклітинному катаболізмі жирних кислот. Відомо, як мінімум, 6 тканинспецифічних форм FABP. У м'язовій тканині серця FABP міститься у високій концентрації - 10-20% від всіх цитоплазматичних білків.

H-FABP (FABP3) – невеликий білок з м.м. 15 кДа, при ГІМ вивільняється в кров. найбільша концентрація H-FABP спостерігається через 3 години після ІМ, протягом 12-24 год вона повертається в межі нормальних значень. Завдяки таким властивостям H-FABP використовують як чутливий маркер для ранньої діагностики ГІМ і для моніторингу його перебігу.



Підвищені рівні Н-FABP дозволяли виявити осіб з великим ризиком небажаних подій навіть серед хворих з нормальним рівнем тропоніну I. Крім того, за концентрацією Н-FABP можна судити про просторості ІМ.

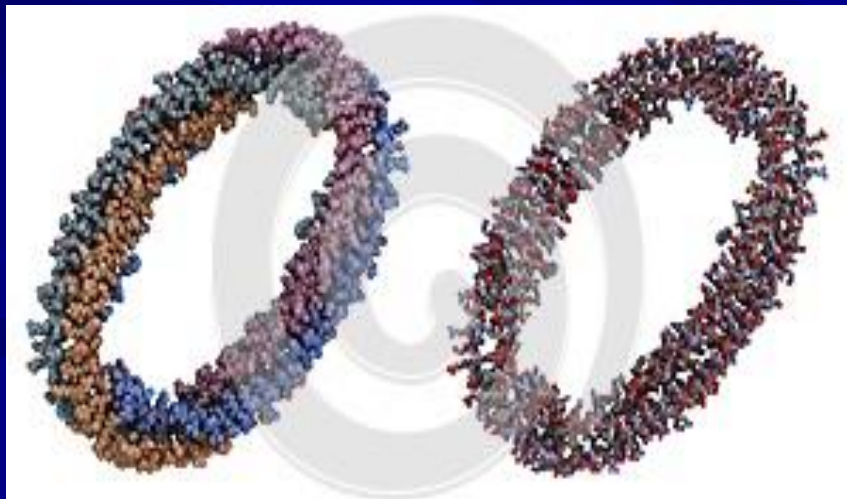
У сироватці плазмі здорових людей присутні близько 1,6 нг/мл Н-FABP, з віком межі нормальної концентрації незначно зростають.

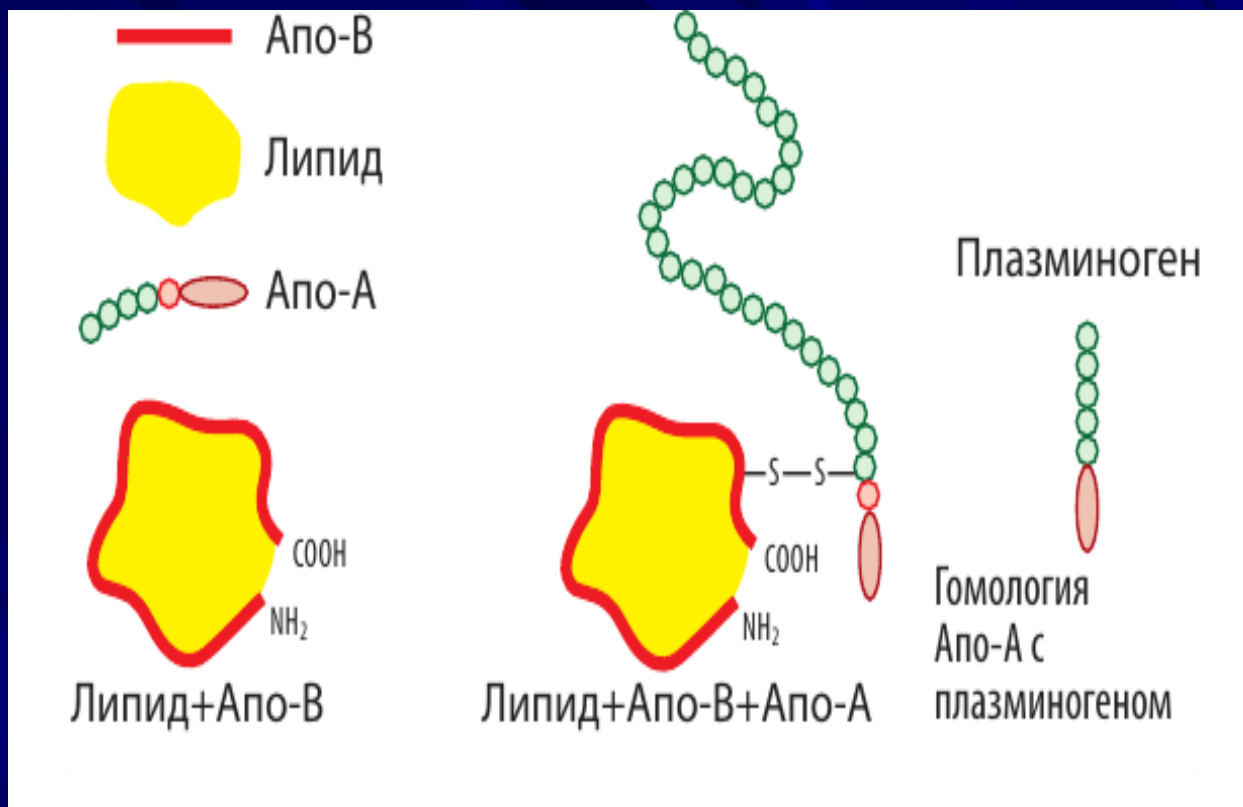
Маркери ризику ССЗ

Аполіпопротеїн А (Апо-А; В)

- **Аполіпопротеїн-1 (Апо-А-1)**- основний білок - переносник т.зв. «хорошого холестерину) - ЛПВЩ. Апо-А-1 є кофактором для реакції, що здійснюється лецитінхолестерінацетілтрансферазою та забезпечує видалення ХС з клітин.
- **Аполіпопротеїн В (Апо-В)** – основний білковий компонент ЛПНЩ, ЛПДНЩ, ЛПП та хіломікронів. Існує у вигляді двох ізоформ Апо-В-48 і Апо-В-100. Патогенна роль відводиться перш за все Апо-В-100, оскільки по його кількості можна судити про кількість частинок ЛПНЩ. Апо-В-100 сприяє проникненню ХС в судинну стінку і утворення АСБ.

Численні роботи доводять, що рівень циркулюючого **ЛП (а)** є **незалежним чинником ризику розвитку ССЗ**. Так, підвищена концентрація ЛП (а) є спадкоємним фактором ризику для ІХС. Високий рівень ЛП (а) був виявлений при сімейній гіперхолестеринемії, та його заміри може бути використані в клініці для запобігання розвитку даного захворювання у таких пацієнтів. **Також були опубліковані результати про те, що ЛП (а) є важливим індикатором захворювань судин головного мозку.**

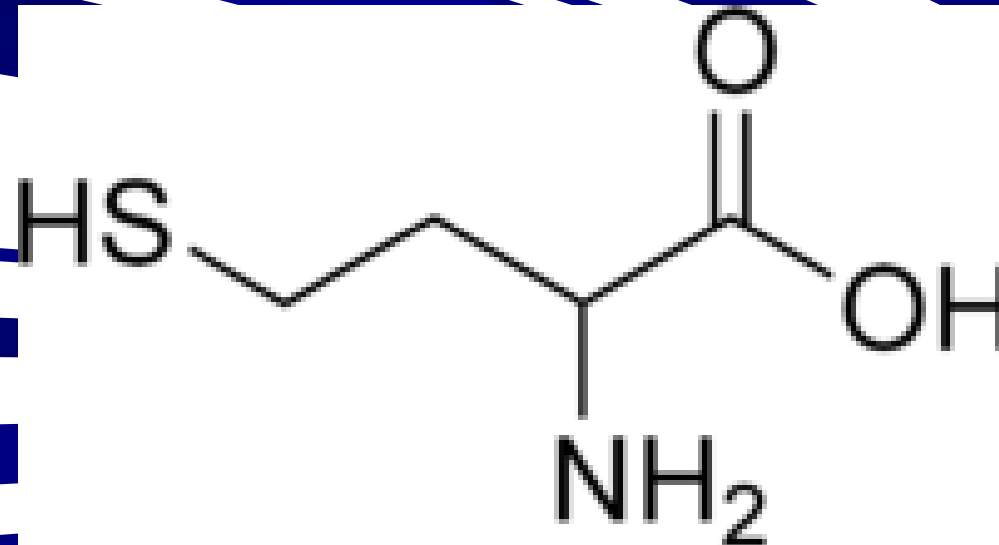




Численні дослідження переконливо продемонстрували: показник балансу атерогенних і антиатерогенних частинок **Apo-B/Apo-A** - найбільш точний індикатор ризику ССЗ у осіб з відсутністю симптомів і осіб, які страждають на діабет. Більш того, ставлення **Apo-B/Apo-A** - самий адекватний показник ефективності терапії, спрямованої на зниження рівнів **ЛПНЩ-холестерину**.

Гомоцистеїн (ГЦ)

Гомоцистеїн є неперотеїногенна амінокислота, є рідкісним амінокислотами і відрізняється на одній метиленову групу (CH₂). Гомоцистеїн синтезується з метіоніну.



Гіпергомощієїнеїя і порушення метилування



Гомоцистеїн (ГЦ)

За результатами більшості клінічних досліджень, виявлено достовірний зв'язок підвищення рівня ГЦ в плазмі крові зі збільшенням ризиком ССЗ і їх ускладнень. У осіб з підвищеним вмістом ГЦ збільшується ризик розвитку ІМ у всіх вікових групах незалежно від куріння, рівня ХС і артеріальної гіпертензії. Результати клінічних досліджень дозволили виявити зв'язок рівня загального ГЦ крові з товщиною шару інтими-медії артерії, що підтверджує припущення про значимість гіпергомоцистеїнемії при пошкодженні стінки судини, в тому числі і на ранніх стадіях АС. У чоловіків з рівнем ГЦ всього на 12% перевищує норму, спостерігається потрійне збільшення ризику серцевого нападу. **З гіпергомоцистеїнемією може бути пов'язано 10% ризику коронарної хвороби серця в загальній популяції.**

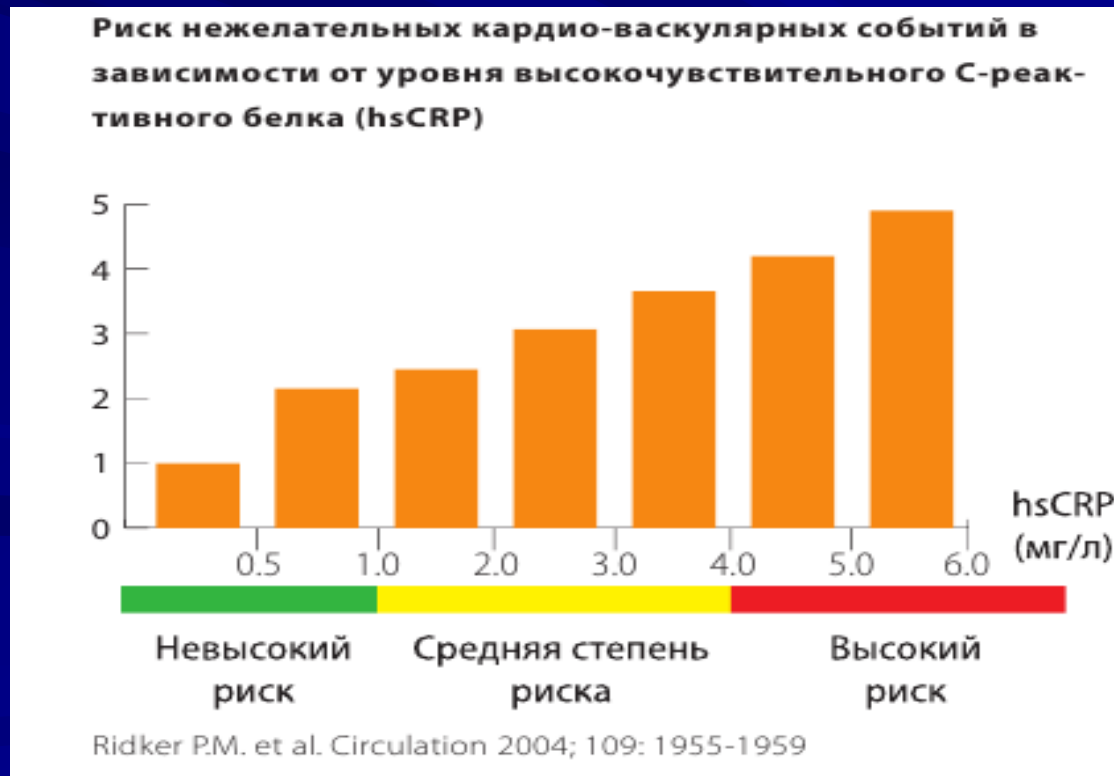
Рекомендується перевіряти рівень ГЦ у всіх осіб з артеріальними або венозними тромбозами в анамнезі, коронарною хворобою серця, всім які готуються до вагітності жінкам, у родичів яких були ІнМ, ІМ і тромбози у віці до 45-50 років. Вивчення зв'язку рівня ГЦ з віддаленими результатами після процедур ангіопластики і стентування коронарних артерій показали, що гіпергомоцистеїнемія - незалежний фактор ризику розвитку рестенозу у хворих на ІХС.

Підвищену схильність до гіпергомоцистеїнемії мають **курці**. Споживання великої **кількості кави** є одним з найпотужніших чинників, що сприяють підвищенню рівня гомоцистеїну в крові. У осіб, які випивають **більше 6 чашок кави в день, рівень гомоцистеїну на 2-3 мкмоль/л вище**, ніж у тих, хто не п'є каву. Негативна дія кофеїну на рівень гомоцистеїну пов'язано зі зміною функції нирок. Рівень гомоцистеїну часто підвищується **при сидячому способі життя**. Помірні фізичні навантаження сприяють зниженню рівня гомоцистеїну при гіпергомоцистеїнемії. Споживання невеликої кількості **алкоголю** може знижувати рівень гомоцистеїну, а велика кількість спиртного сприяє зростанню гомоцистеїну в крові.

Високочутливий С-реактивний білок(hsCRP)

CRP є білком гострої фази і синтезується виключно в печінці. Цей білок був відкритий в 1930 р в плазмі пацієнтів страждаючих на пневмонію і отримав назву за здатність пов'язувати С-полісахарид пневмококів. **CRP** відноситься до сімейства пентраксинів, для якого характерний комплекс з 5 дископодібних субодиниць. Кожна субодиниця має м.м. 23 кДа, а загальна маса CRP - 110-115 кДа. Фізіологічна роль CRP різноманітна, одна з найважливіших функцій - участь у захисних реакціях організму. **CRP вважається дуже корисним маркером запальних процесів. Концентрація CRP в сироватці або плазмі зростає протягом 24-48 годин після гострого пошкодження тканин, досягає піку в гострій стадії і знижується після проходження запалення або травми.**

Великі епідеміологічні та клінічні дослідження, проведені починаючи з середини 90-х років, показали, що величина базового рівня CRP має важливе практичне значення, тому що вона **безпосередньо пов'язана з ризиком розвитку важких ССЗ і їх ускладнень - гострого ІМ. Базовий рівень CRP - предиктор смерті від судинних і загальних причин, особливо у літніх.**



Антитіла до кардіоліпіну (АКА)

Фосфоліпін - фосфоліпід, який є важливим компонентом внутрішньої мембрани мітохондріального пірннї сїада. Він складає близько 20% від загальної маси пірннї сїада.

За останніми даними АКА іграють значну роль, особливо роль у виникненні сервинних і сїасних ішемічних коронарних артерій.



Запалення в суб'єдотеліальному шарі

Фракталкін - представник підродини хемокінів з трьома амінокислотними залишками. Фракталін викликає адгезію і хемотаксис моноцитів, Т-клітин і природних кілерів та відіграє важливу роль в патогенезі АС.

Салусін-α - підсилює споживання кальцію і синтез білку в кардіоміоцитах, є фактором росту і гіпертрофії міокарду. Концентрація салусіна α в плазмі негативно корелює зі ступенем розвитку АС.

Ростовий фактор диференціювання 15 (GDF-15 / MIC-1) - (growth differentiation factor 15 або macrophage-inhibitor cytokine 1). GDF 15 синтезується у вигляді 65-амінокислотного білку. У нормі цей білок продукується різними тканинами (головним чином в плаценті та простаті), виключаючи серце. У серці GDF 15 експресується на фоні окисного стресу при ІМ та інших ССЗ. Підвищений рівень GDF15 пов'язаний зі збільшенням ризику кардіоваскулярних подій.

Стабільність атеросклеротичної бляшки

Асоційований з вагітністю плазмовий протеїн-А (РАРР-А) - цинк містить металопротеїнази, що сприяє вивільненню активного інсуліноподібного фактору росту. Крім синтезу РАРР-А під час вагітності трофобластами плаценти, також синтезуватися в гладких м'язах судин і ендотеліальних клітинах та посилюється у відповідь на пошкодження, сприяє відновленню пошкоджених тканин.

Тромбоспондин - 2 (TSP2) - експресується фібробластами і гладком'язовими клітинами. TSP2 регулює клітинні взаємодії з позаклітинним матриксом, забезпечує життєздатність, проліферацію і хемотаксис ендотеліальних клітин, формування колагенового матриксу. Знижений рівень TSP2 відзначається у пацієнтів з гіпертрофією серцевого м'язу.

Матриксний білок, що містить γ -карбоксиглутамат (MGP)

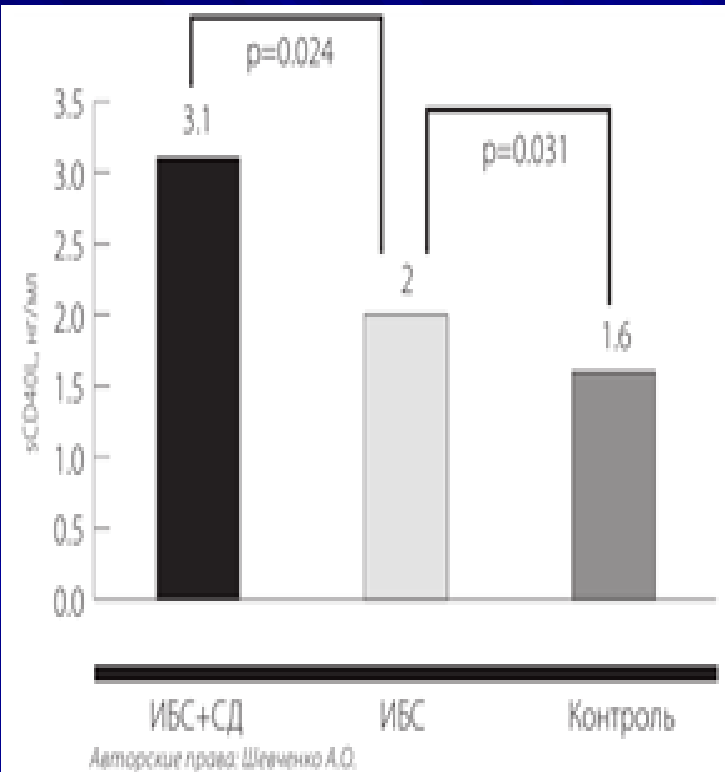
Одним з білків, що містять γ -карбоксиглутамат, є матриксний **GLA** білком (MGP), який синтезується хондроцитами і клітинами гладкої мускулатури судинної стінки. **MGP** - пептид, що складається з 84 АК залишків, спочатку ідентифікований в кістковій тканині. Він належить групі вітамін К-залежних білків. **MGP** - потужний інгібітор кальцифікації тканин. **MGP** може бути легко виявлений в тканинах, де він накопичується в хрящах і судинах, особливо навколо зон ризику утворення кальцифікатів і навколо вже наявних відкладень солей кальцію. **Можливі діагностичні програми: АС, склероз Монкеберга, кальцифікати серцевих клапанів, остеоартрит, спондиліт, хвороба Бехтерєва.**

Матриксні металопротеїнази (ММР-1, ММР-3, ММР-9)

Сімейство **ММР** складається не менше ніж з 20 протеолітичних ферментів. Всі вони характеризуються наявністю наступних загальних властивостей: руйнують екстрацелюлярний матрикс, секретуються як профермент і для активації потребують протеолітичного розщеплення, активні в нейтральному середовищі. Охарактеризовані тканинні інгібітори ММР, які блокують їх активність і, таким чином, беруть участь в регуляції виробленого ними ефекту. **Товщина фіброзної капсули сильно залежить від активності ММР, оскільки вони здатні розщеплювати білки міжклітинного матриксу при нейтральному рН.** У найбільш вразливій області АСБ виявляється найбільша активність ММР. Найбільшою мірою нестабільність атером визначається активністю ММР-1, -3 і -9.

sCD40L

CD 40-ліганд належить до сімейства TNF. У крові присутня розчинна ізоформа ліганду (sCD40L), що представляє собою гомотример з ММ 18 кДа. бере участь в В-клітинній проліферації і диференціюванні, здатна захищати В-клітини від апоптозу. **Розчинна CD40L бере участь в патогенезі АС і гострих коронарних синдромів, будучи одночасно медіатором запалення і тромбоутворення. sCD40L має прогностичне значення у хворих з різними формами ІХС.** Так, у хворих на ішемічну хворобу серця при високому рівні sCD40L (> 1,5 нг/мл) ризик розвитку ішемічного ІнМ або ІМ був істотно вище (80%), в порівнянні з хворими з ІХС з рівнем <1,5 нг/мл (38 %).



Хемокіни

Хемокіни – суперсімейство малих секретуючих протеїнів, функціонуючі в якості міжклітинних посередників для контролю активації і міграції різних клітин крові (наприклад: Т- і В-лімфоцитів, моноцитів, нейтрофілів, еозинофілів, базофілів) до вогнища запалення в разі алергічних та інших імунних реакцій. Хемокіни містять чотири консервативних цистеїни, пов'язаних дисульфідними містками. Залежно від того, розділені перші два консервативних залишки цистеїну однієї АК чи ні, розрізняють дві підродини хемокінів, CC і CXC. RANTES і MCP-1 належать до CC сімейства β -хемокінів.

RANTES

Активність хемокіну RANTES не обмежується тільки хемотаксисом. Його активність проявляється при гострих і хронічних запальних процесах. З одного боку, рівень RANTES (поряд з рівнем інших хемокінів: MCP-1 і MIP-1 α) зростає після ІМ і зберігається підвищеним протягом тижня. З іншого боку, низький базовий рівень RANTES є незалежним предиктором інфаркту міокарду та смертності від серцевої недостатності.

Моноцитарний хемотаксичний протеїн-1 (MCP-1)

MCP-1 (моноцитарний хемотаксичний і активуючий фактор - моноцит специфічний хемоатрактант, MCP-1 відіграє патогенетичну роль при безлічі різних захворювань, що характеризуються інфільтрацією мононуклеарних клітин, включаючи АС. Аналогічно RANTES рівень MCP-1 зростає при ІМ і корелює зі ступенем його тяжкості: 295 ± 11 пг/мл ($n=17$) при ГІМ II і III ступеня, проти 203 ± 9 пг/мл ($n=18$) при ГІМ I ступеня (при значеннях в контрольній групі - 125 ± 7 пг / мл).⁴⁰

Фактор Вілебранда(vWF)

vWF - складний мультимерний адгезивний глікопротеїн, який синтезується мегакаріоцитами. Підвищені рівні vWF або його активності є індикатором пошкодження ендотелію при ССЗ, і попередні дослідження показали, що пошкодження ендотелію може бути істотно для гіпертензійних судинних ускладнень. При пошкодженні кровоносної судини vWF сприяє адгезії тромбоцитів, зв'язуючись з рецептором адгезивного глікопротеїну GPIb. Показано, що найбільш ефективно з рецептором GPIb взаємодіє іммобілізований vWF або vWF в складі позаклітинного матриксу в умовах значної деендотелізації судини.

NB!!!

Такий механізм, можливо, є одним із головних етапів початкового приєднання тромбоцитів до пошкодженої судинної стінки.